



УДК 616.12-008.331.1+159.96]-036.12:575.15

**АССОЦИАЦИЯ ПОЛИМОРФНЫХ МАРКЕРОВ ГЕНА AGT
С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ В УСЛОВИЯХ ДЕЙСТВИЯ
ФАКТОРОВ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА**

**ASSOCIATION OF THE AGT GENE POLYMORPHISM MARKERS WITH
HYPERTENSION IN CONDITIONS OF CHRONIC STRESS**

**И.С. Луцкий, М.С. Кишеня
I.S. Lutskyi, M.S. Kishenya**

Донецкий национальный медицинский университет им. М. Горького,
Украина, 283003, Донецк, пр. Ильича, 16

Donetsk National Medical University of Maxim Gorky,
Ukraine, 283003, Donetsk, Illich Av. 16

E-mail: lutsky.ig@rambler.ru

Аннотация

Изучали ассоциацию полиморфизмов Thr174Met и Met235Thr гена AGT с артериальной гипертензией (АГ) в условиях действия хронического стресса (ХС). Обследовали 141 машиниста магистральных локомотивов (ММЛ), у которых длительность действия ХС определяла частоту и тяжестью АГ. У 61 ММЛ с АГ и 50 без АГ исследовали генотипы указанных полиморфизмов гена AGT. Для полиморфизма Thr174Met получили следующее соотношение генотипов: в группе ММЛ с АГ генотип Thr174Thr встречался в 70.49% случаев, генотип Thr174Met – в 27.87%, Met174Met – в 1.64%; в группе без АГ соотношение составило 70%, 28% и 2% соответственно. Оценка рисков АГ при исследованных генотипах не выявила статистически значимых ($p(\chi^2)=1.034$). При изучении полиморфизма Met235Thr выявили следующие соотношения генотипов: в группе ММЛ с АГ генотип Thr235Thr встречался в 19.67% случаев, генотип Thr235Met – в 54.1%, Met235Met – в 26.23%; в группе без АГ соотношение составило 76%, 16% и 8% соответственно. Оценка рисков АГ показала, что носители генотипов Thr235Met и Thr235Thr, а также аллельного варианта Thr имеют высокие риски развития АГ ($p(\chi^2)=1.034$ и $p(\chi^2)=0.0001$ соответственно). Указанные генотипы ассоциируются с нарушением продукции сосудистых вазорегуляторов.

Abstract

Association of angiotensinogen Thr174Met и Met235Thr gene polymorphisms with arterial hypertension (AH) in conditions of chronic stress (CS) was studied.

As the object of the effect of CS 141 railroad engineers (RRE) were examined, which had association between duration of stress and the frequency and severity of hypertension. The frequency of relevant AGT gene polymorphisms was determined in 61 RRL with AH and 50 normotensive one.

The next genotypes ratio for Thr174Met polymorphism were found out: in the group of RRE with AH genotype Thr174Thr was discovered in 70.49% of cases, the genotype Thr174Met – in 27.87%, Met174Met – 1.64%; in the group of RRE without AH the ratio was 70%, 28% and 2% respectively. Risk assessment of AH among RRE with identified genotypes did not reveal statistically significant differences (for Thr174Thr OR = 1.024 (0.45–2.32), for Thr174Met OR=0.994 (0.43–2.29), for Met174Met OR=0.817 (0.05–13.39), $p(\chi^2)=1.034$). The next genotypes ratio for Met235Thr polymorphism were found out: in the group of RRE with AH genotype Thr235Thr was discovered in 19.67% of cases, the genotype Thr235Met – in 54.1%, Met235Met – 26.23%; in the group of RRE without AH the ratio was 76%, 16% and 8% respectively. The risk assessment of AH showed that carriers of the genotypes Thr235Met and Thr235Thr, as well as the allelic variant Thr, have a high risk for developing hypertension (for Thr235Met OR=6.2 (2.5–15.35), for Thr235Thr OR=4.1 (1.27–13.18), $p(\chi^2)=1.034$, for Thr allele OR=5.99 (3.15–11.3), for Met OR=0.17 (0.09–0.32), $p(\chi^2)=0.0001$).



The Thr235Met and Thr235Thr genotypes of RRE with AH were associated with high production of the vasoconstrictor endothelin-1 ($p=0.018$) and angiotensin II ($p=0.0002$), inhibition of nitric oxide synthesis ($p=0.027$), activation of the processes of vascular remodeling.

Ключевые слова: хронический стресс, артериальная гипертензия, полиморфизм Thr174Met и Met235Thr гена AGT.

Keywords: chronic stress, arterial hypertension, the AGT Thr174Met and Met235Thr gene polymorphism.

Введение

Среди факторов риска развития сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) особое место занимает артериальная гипертензия (АГ), являющаяся в настоящее время основной причиной развития ССЗ [McFarlane et al., 2011]. Богатая история изучения АГ не дает исчерпывающих ответов на вопросы об этиологии АГ. Перспективным направлением дальнейших поисков является исследование роли генетических факторов развития АГ. Количество генов-кандидатов, участвующих в реализации АГ, достаточно велико. Среди них представлены группы генов, контролирующие различные метаболические и гомеостатические системы, нарушения в которых оказывает воздействие на патогенетические механизмы возникновения и течения ССЗ [Пахомеля и др., 2014]. Одним из таких генов является ген ангиотензиногена (AGT), который локализован на длинном плече 1-й хромосомы в локусе 1q42-q43 и содержит 5 экзонов. AGT экспрессируется преимущественно в печени и находится под контролем эстрогенов, глюкокортикоидов, тиреоидных гормонов и ангиотензина II. AGT синтезируется также в мозге, крупных артериях, почках и жировой ткани, служит предшественником ангиотензина-II, обладающего вазопрессорной активностью. В настоящее время известно около 30 однонуклеотидных полиморфизмов AGT, большая часть которых приводит к аминокислотным заменам. Наиболее исследованы аллельные варианты мутаций, связанные с заменами метионина (Met) на треонин (Thr) в 235 кодоне (Met → Thr или Met235Thr) и треонина на метионин в 174 кодоне (Thr → Met или Thr174Met) [Dickson, Sigmund, 2007].

В последние годы появляются свидетельства влияния хронического стресса (ХС) на возникновение и течение ССЗ [Громова, 2012; Lagraauw et al., 2015; Winning et al., 2015]. Активно изучаются факторы, посредством которых стрессоры оказывают воздействие на патогенез ССЗ: избыточная продукция глюкокортикоидных гормонов [Dang et al., 2016], чрезмерная активация симпатических структур вегетативной нервной системы [Hering et al., 2015], нарушение антиоксидантной защиты и чрезмерная продукция свободных радикалов [De Luca et al., 2009], запуск процессов эндотелиальной дисфункции [Puzserova et al., 2013].

Цель

Целью исследования явилось изучение ассоциации полиморфизмов Thr174Met и Met235Thr гена AGT в формировании АГ в условиях действия факторов ХС.

Материалы и методы

В качестве модели, подверженной воздействию хронического стресса (ХС), обследовали 141 машиниста магистральных локомотивов (ММЛ). Выбор указанной профессии связан с тем, что по определению Международной организации труда профессия ММЛ относится к наиболее стрессогенным. Подверженность воздействию факторам стресса оценивали с использованием шкалы психологического стресса PSM-25 (Lemure L. et al., 1990). В исследование включали ММЛ с показателями психологической напряженности выше среднего



(больше 100 баллов). Сформировано 5 групп ММЛ в зависимости от возраста и стажа работы (СР). При этом СР выступал в качестве меры длительности воздействия ХС. 1 группу составили 28 ММЛ после окончания техникума, возраст 19.12 ± 0.89 (СР до 1 года); 2 группу – 28 ММЛ, возраст 27.54 ± 1.18 (СР 5–7 лет); 3 группу – 29 человек, возраст 37.41 ± 1.09 (СР 14–17 лет); 4 группу – 28 ММЛ, возраст 46.37 ± 1.06 (СР 21–24 года) и 5 группу – 28 человек, возраст 56.51 ± 1.02 (СР 30–34 года). В качестве контроля обследовали 100 практически здоровых мужчин-добровольцев, составивших контингент сравнения (КС), они имели низкие показатели психологической напряженности (менее 100 баллов). КС был распределен на группы, идентичные по возрастным параметрам ММЛ: гр. 1 – 20 человек, возраст 19.62 ± 0.87 ; гр. 2 – 20 добровольцев, возраст 26.42 ± 0.78 ; гр. 3 – 20 мужчин, возраст 34.52 ± 1.19 ; гр. 4 – 20 человек, возраст 45.09 ± 1.05 и гр. 5 – 20 добровольцев, возраст 55.34 ± 1.10 .

Динамику среднесуточного артериального давления (АД) в группах изучали методом холтеровского мониторирования АД с помощью аппарата «Кардиотехника 04», производства ИНКАРТ, Россия. Использовали среднесуточные показатели суточного мониторирования систолического артериального давления (СМСАД) и суточного мониторирования диастолического артериального давления (СМДАД).

Измерение толщины комплекса интима-медиа общей сонной артерии (КИМ ОСА) проводили на ультразвуковом доплеровском аппарате VIVID-3 компании GE (США) в режиме триплексного сканирования датчиком 7 МГц в области задней стенки основной артерии на расстоянии 1 см от ее бифуркации с двух сторон и вычисляли среднее значение. С применением кардиологического датчика 3,5 МГц проводили эхокардиографическое исследование с вычислением массы миокарда левого желудочка (ММЛЖ) и индекса ММЛЖ (ИММЛЖ).

Для определения активности центральных стрессорных систем (СС) исследовали уровень в крови адренокортикотропного гормона (АКТГ); функциональное состояние периферического отдела СС изучали по содержанию кортизола (Кр) и кортикостерона (Кс). Применяли метод иммуноферментного анализа (ИФА), использовали наборы фирмы DSL (США) и ELISA (ФРГ).

Содержание эндотелина-1 (ЭТ-1) и ангиотензина II (АП) в сыворотке крови изучали методом иммуноферментного анализа с использованием наборов фирмы DSL (США).

Концентрацию в крови оксида азота (NO) определяли по уровню его стабильного метаболита нитрит-аниона NO_2^- с применением реактива Грисса. Показатели биохимической реакции регистрировали на спектрофотометре «Specord 200» при длине волны 546 нм.

Генетические исследования проведены с учетом информированного согласия пациентов. ДНК-диагностику проводили в отделе молекулярно-генетических исследований ЦНИЛ ДонНМУ им. М. Горького. ДНК выделяли из цельной крови с помощью реагента «Проба-рапид генетика» (ДНК-Технология, Россия). Использовали диагностические тест-систему «SNP-экспресс» – Thr174Met и Met235Thr гена AGT производства НПФ Литех (Россия). Анализ полиморфных ДНК-локусов осуществляли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) синтеза ДНК с последующей электрофоретической детекцией. Для ПЦР использовали амплификатор «GeneAmp PCR System 2400» (США). Детекцию амплифицированных фрагментов проводили путем электрофореза в 3 %-ном агарозном геле, окрашенном в бромистом этидии, с последующей визуализацией результатов в ультрафиолетовом трансллюминаторе «TFX-20.M» («Vilber Lourmat», Франция).

Статистическую обработку проводили с помощью программы «Statistica-7.0» компании StatSoft. Для оценки межгрупповой разницы применяли непараметрические методы статистики: для двух независимых групп использовали критерий Манна – Уитни, для нескольких независимых групп критерий Фридмана ANOVA и Кендал. Частоту каждого из полиморфизмов определяли с помощью анализа таблиц сопряженности (критерий χ^2), различия количественных показателей между группами определяли посредством дисперсионного анализа (F-крит) с уровнем значимости $p \leq 0.05$. Ассоциации аллелей и генотипов с факторами ХС оценивали с помощью отношения шансов (OR) с 95% доверительным ин-

тервалом. Степень ассоциаций оценивали в значениях показателя отношения шансов odds ratio, OR, по формуле: $OR = (a \times d) / (b \times c)$, где a – частота аллеля (генотипа) в выборке больных, b – частота аллеля (генотипа) в контрольной выборке, c – сумма частот остальных аллелей (генотипов) в выборке больных, d – сумма частот остальных аллелей (генотипов) в контрольной выборке.

Соответствие распределения аллелей и генотипов равновесию Харди – Вайнберга проверяли по критерию χ^2 . Для оценки связи количественных признаков с генетическим полиморфизмом использовали метод однофакторного дисперсионного анализа. Во всех статистических тестах в качестве критерия статистической достоверности рассматривали уровень значимости более 95% ($p < 0.05$). Результаты представлены в виде М (95% ДИ).

Результаты и их обсуждение

С целью подтверждения реакции стрессорной системы на действие факторов ХС при проведении исследования определяли содержание основных гормонов стресса (ГС) у ММЛ и у КС. Первые годы действия стрессоров сопровождались статистически значимым повышением уровней ГС как центрального (АКТГ), так и периферического звеньев (Кс, Кр) стрессорной системы (табл. 1), что наблюдали в гр. 1 ММЛ. Спустя 5–7 лет пребывания в условиях влияния ХС наблюдали снижение концентрации ГС у ММЛ (гр.2), значения которых приближались к показателям аналогичной группы КС. Через 12–15 лет действия ХС наблюдали повторный статистически значимый рост уровней ГС у ММЛ (гр. 3), который удерживался до окончания исследования (гр. 4 и гр. 5 машинистов).

Таблица 1
Table. 1

Содержание гормонов стресса у ММЛ и в группах КС
The concentration of stress hormones in the RRE and CS groups

Показатель		Группы				
		1-я	2-я	3-я	4-я	5-я
АКТГ, пмоль/л	ММЛ	41.2* (27.2–55.3)	25.3 (17.4–33.1)	535* (34.9–74.9)	479* (29.6–68.9)	597* (25.9–93.9)
	КС	26.6 (22.5–30.6)	26.4 (22.2–30.7)	26.4 (22.0–30.7)	29.3 (24.9–33.7)	27.4 (23.6–31.1)
Кр, нмоль/л	ММЛ	433.3* (350.6–516)	355.4 (315.5–395.3)	431.7* (400.4–470.2)	474.6* (395.2–557.3)	434.9* (367.0–502.8)
	КС	343.0 (313.2–372.8)	362.3 (328.9–395.7)	363.1 (327.4–398.8)	334.7 (304.0–365.3)	357.5 (336.9–378.1)
Кс, нмоль/л	ММЛ	17.0* (14.5–19.6)	14.8 (12.9–16.8)	18.4* (15.8–21.1)	20.4* (17.0–24.5)	21.3* (17.1–25.5)
	КС	13.4 (11.7–15.0)	15.5 (12.7–18.3)	14.1 (12.6–15.6)	14.6 (13.4–15.8)	14.6 (12.5–16.4)

Примечание: * – $p < 0.05$ в сравнении с соответствующей группой контингента сравнения.

Результаты среднесуточного мониторингирования АД (СМАД) показали, что уже начальный период действия факторов ХС сопровождается формированием АГ у ММЛ. При этом наблюдается тенденция к увеличению числа машинистов с АГ в зависимости от длительности работы в условиях влияния ХС (рис. 1).

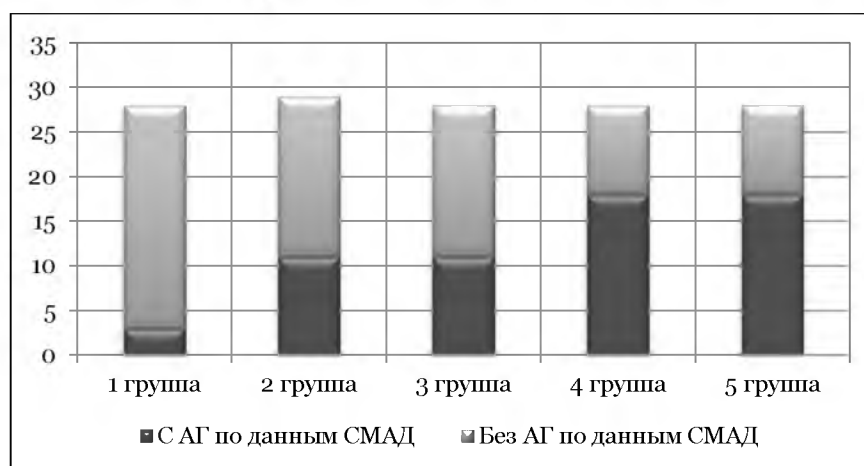


Рис. 1. Распределение обследованных ММЛ в зависимости от длительности воздействия ХС и наличия/отсутствия признаков АГ

Fig. 1. Distribution of the examined RRE in dependence of the duration of CS and the presence/absence of AN

Для оценки роли генетических факторов в развитии АГ в условиях действия ХС ММЛ были разделены на две группы. В первую группу вошел 61 ММЛ с различной степенью АГ. Вторую группу – контрольный контингент (КК) – составили 50 ММЛ с нормальными цифрами АД.

Результаты генетического анализа Thr174Met гена AGT показали, что в 2-х группах обследуемых лиц были выявлены все три возможных генотипа – Thr174Thr, Thr174Met и Met174Met с разной частотой встречаемости. Наблюдаемое распределение частот выявления генотипов гена AGT в группе обследованных машинистов с АГ и в контрольной группе соответствовало равновесию Харди – Вайнберга.

Наиболее распространенным оказался генотип Thr174Thr, который был обнаружен у 70.5 % ММЛ с АГ и у 70.0 % машинистов в контрольной группе (табл. 2). Соответственно, статистически значимых различий между обследованными контингентами машинистов не обнаружено ($p=0.96$). Гетерозиготный вариант Thr174Met также встречался в обследованных группах с близкой частотой (27.87% и 28% соответственно), как и гомозиготный вариант Met174Met, который выявили по 1 случаю в каждой из обследованных групп (1.64% и 2% соответственно).

Таблица 2
Table. 2

Распределение полиморфизмов Thr174Met гена AGT в исследуемых группах
Distribution of the AGT Thr174Met gene polymorphisms of the study groups

Генотипы	ММЛ с АГ		Контроль		χ^2
	N (n=61)	%	N (n=50)	%	
Thr174Thr	43	70.49	35	70	≥ 0.05 ($p=0.96$)
Thr174Met	17	27.87	14	28	≥ 0.05 ($p=0.98$)
Met174Met	1	1.64	1	2	≥ 0.05 ($p=0.89$)
Thr	103	84.4	84	84	≥ 0.05 ($p=0.93$)
Met	19	15.6	16	16	

Примечание: n – количество обследованных ММЛ; χ^2 – критерий «хи-квадрат» Пирсона; p – достигаемый уровень значимости.

При анализе связи полиморфизма Thr174Met гена AGT с показателями суточного мониторингирования АД не выявлено статистически значимой связи показателей САД и ДАД



с различными генотипами указанного гена (табл. 3). Полученные результаты позволяют утверждать, что экспрессия различных генотипов полиморфизма Thr174Met гена AGT при действии факторов ХС не имеет преимуществ в процессе формирования АГ у обследованного контингента машинистов.

Таблица 3
Table. 3

Сравнительная характеристика показателей суточного мониторингирования АД в зависимости от полиморфизма Thr174Met гена AGT
Comparative characteristics of the parameters of 24-hour ambulatory blood pressure monitoring as a function of the AGT Thr174Met gene polymorphism

	Thr174Thr (n=43)	Thr174Met (n=17)	Met174Met (n=1)	p(F)	Контроль (n=50)
САД мм рт.ст.	144,9 (142.1–147.7)	145.5 (141.1–149.9)	152	p=0.9342	127 (126.1–129.9)
ДАД мм рт.ст.	92.1 (90.1–94.2)	92.5 (87.4–97.7)	86	p=0.8026	74 (71.5–76.2)

Оценка взаимосвязи продукции вазорегулирующих пептидов с полиморфизмом Thr174Met гена AGT не выявила статистически значимых различий между генотипами указанного гена и уровнями вазорегуляторов (табл. 4). Как в случае генотипа Thr174Thr, так и генотипа Thr174Met отмечено статистически значимое повышение содержания вазоконстрикторов АТII и ЭТ-1 в сравнении с группой машинистов без АГ ($p<0.05$), а также статистически значимое снижение синтеза вазодилатора NO_2^- ($p<0.05$).

Выявленный дисбаланс в продукции вазорегуляторов со смещением в сторону преобладания вазоконстрикторных влияний является одной из причин развития процессов ремоделирования, в частности магистральных сосудов головы, о чем свидетельствует статистически значимое увеличение значений КИМ ОСА у ММЛ с АГ в сравнении с контрольной группой без АГ (табл. 4) [Schiffrin, 2012].

Таблица 4
Table. 4

Сравнительная характеристика содержания вазорегуляторных веществ и толщина КИМ ОСА в зависимости от полиморфного варианта Thr174Met гена AGT
Comparative characteristics of the concentration of vasoregulatory substances and intima media complex thickness of common carotid artery depending of the AGT Thr174Met gene polymorphism

Показатель	Thr174Thr (n=43)	Thr174Met (n=17)	Met174Met (n=1)	p(F)	Контроль (n=50)
ЭТ-1, пг/мл	14.59 (8.07–21.12)	12.55 (3.41–21.69)	12.35	p=0.4667	7.24 (6.57–7.76)
NO_2^- , мкмоль/л	5.57 (4.92–6.23)	5.48 (4.29–6.66)	6.14	p=0.8992	7.56 (6.83–7.98)
АТII, пкг/л	22.41 (16.70–28.12)	25.21 (15.52–34.90)	23.98	p=0.7957	12.65 (12.75–19.79)
КИМ ОСА, см	0.73 (0.67–0.79)	0.72 (0.65–0.78)	0.68	p=0.8876	0.54 (0.55–0.63)

При анализе распределения частот аллелей и генотипов полиморфного маркера Thr174Met гена AGT у машинистов с АГ и в контроле мы не обнаружили статистически значимых различий между сравниваемыми группами (табл. 5). Частота аллеля Thr174 и



174Met у ММЛ с АГ и в контроле не имела статистически значимой разницы ($OR=1.033$ и 0.968 соответственно, $p(\chi^2)=0.44$). Аналогично обстояла ситуация и с генотипами Thr174Thr, Thr174Met и Met174Met, частота обнаружения которых у машинистов с АГ и в контроле не имела статистически значимых различий ($OR=1.024$, 0.994 и 0.817 соответственно, при $p(\chi^2)=1.034$). Полученные данные свидетельствуют об отсутствии ассоциации полиморфного маркера Thr174Met гена AGT с развитием АГ у ММЛ в условиях действия ХС.

Таблица 5
Table. 5

Распределение частот генотипов полиморфизма Thr174Met гена AGT и степень ассоциации с артериальной гипертензией
The frequency distribution of the genotypes of the AGT Thr174Met gene polymorphism and the association extent with hypertension

Генотипы	ММЛ с АГ (n=61)		Контроль (n=50)		OR	95% ДИ	χ^2	p(χ^2)
	n	%	n	%				
Thr174Thr	43	70.5	35	70.0	1.024	0.452–2.319	0.021	1.034
Thr174Met	17	27.9	14	28.0	0.994	0.432–2.286		
Met174Met	1	1.6	1	2.9	0.817	0.05–13.395		
Thr174	103	84.4	84	84.0	1.033	0.5–2.132	0.008	0.44
174Me	19	15.6	16	16.0	0.968	0.469–1.999		

Примечание: n – количество обследованных ММЛ; F – критерий Фишера; χ^2 – критерий «хи-квадрат» Пирсона; OR – отношение шансов; p – достигаемый уровень значимости.

Исследование частоты полиморфизма Met235Thr гена AGT в группе ММЛ с АГ и контроле показало, что были выявлены все три возможные генотипа – Met235Met, Met235Thr и Thr235Thr с разной частотой встречаемости (табл. 6). Полученное распределение частот выявления генотипов гена AGT в группе обследованных машинистов с АГ и в контрольной группе соответствовало равновесию Харди – Вайнберга.

Таблица 6
Table. 6

Распределение полиморфизмов Met235Thr гена AGT в исследуемых группах
Distribution of the AGT Met235Thr gene polymorphisms of the study groups

Генотипы	ММЛ с АГ		Контроль		χ^2
	N (n=61)	%	N (n=50)	%	
Met235Met	12	19.67	38	76	≤ 0.05 (p=0.0001)
Met235Thr	33	54.1	8	16	≤ 0.05 (p=0.0005)
Thr235Thr	16	26.23	4	8	≤ 0.05 (p=0.013)
Met	57	46.7	84	84	≤ 0.05 (p=0.0001)
Thr	65	53.3	16	16	

Примечание: n – количество обследованных ММЛ; χ^2 – критерий «хи-квадрат» Пирсона; p – достигаемый уровень значимости.

Частота генотипа Met235Met в группе ММЛ с АГ составила 19.67% против 76.0% в контроле со статистически значимым уровнем различия (p=0.0001). Гетерозиготный вариант полиморфизма Met235Thr выявлен у 54.1% машинистов с АГ, в контрольной группе – у



16.0%, что также имело статистически значимую разницу ($p=0.0005$). Полиморфный вариант Thr235Thr у ММЛ с АГ встречался с частотой 26.23%, в группе контроля он выявлен в 8% случаев ($p=0.013$). Также выявлены различия в распределении частот для аллелей Met и Thr у машинистов с АГ и контроле (46.7% и 84.0% соответственно для Met и 53.3% и 16.0% соответственно для Thr), которые носили статистически значимый характер ($p=0.0001$).

Проведенный анализ связи полиморфизма Thr174Met гена AGT с показателями суточного мониторирования АД выявил наличие статистически значимой связи показателей САД ($p=0.0013$) и ДАД ($p=0.0042$) с различными генотипами указанного гена (табл. 7). Максимально высокие цифры САД и ДАД у машинистов с АГ зафиксированы при генотипе Thr235Thr, наиболее низкие значения САД и ДАД наблюдали у машинистов с полиморфным вариантом Met235Met.

Таблица 7
Table. 7

Сравнительная характеристика показателей суточного мониторирования АД в зависимости от полиморфизма Met235Thr гена AGT
Comparative characteristics of the parameters of 24-hour ambulatory blood pressure monitoring as a function of the AGT Met235Thr gene polymorphism

Показатель	Met235Met (n=12)	Met235Thr (n=33)	Thr235Thr (n=16)	p(F)	Контроль (n=50)
САД мм рт. ст.	141.9 (137.7–146.1)	145.2 (142.7–147.9)	147.6 (141.2–154.0)	$p=0.0013$	127 (126.1–129.9)
ДАД мм рт. ст.	86.2 (82.3–90.2)	93.5 (90.9–96.1)	95.7 (90.0–101.4)	$p=0.0042$	74 (71.5–76.2)

Проведенный анализ взаимосвязи продукции вазорегуляторных веществ у ММЛ с АГ продемонстрировал статистически значимую зависимость их содержания от полиморфизма Met235Thr гена AGT (табл. 8). Так, концентрация метаболита NO_2^- статистически значимо различалась у машинистов с АГ с различными генотипами полиморфизма Met235Thr гена AGT с $p=0.0278$. Следует отметить, что при генотипе Met235Met уровень NO_2^- статистически не отличался от показателей машинистов без АГ ($p=0.5886$). В то же время при генотипах Met235Thr и Thr235Thr наблюдалось снижение значений NO_2^- как в сравнении с контролем ($p<0.0001$), так и в сравнении генотипом Met235Met ($p=0.0106$ и $p=0.0016$ соответственно). Таким образом, при генотипах Met235Thr и Thr235Thr полиморфного варианта Met235Thr AGT гена на фоне высоких цифр АД происходит формирование процессов эндотелиальной дисфункции (ЭД) [Bermúdez et al., 2008], который более интенсивно протекает при генотипе Met235Thr и Thr235Thr.

На фоне низкого содержания вазодилататоров наблюдали статистически значимое повышение уровней вазоконстрикторов ЭТ-1 и АП II у машинистов с АГ в зависимости от вариантов полиморфизма Thr174Met гена AGT ($p=0.0183$ и $p=0.0002$ соответственно). При генотипе Met235Met содержание ЭТ-1 статистически не отличалось от значений в группе контроля ($p=0.1757$), а концентрация АП II была ниже значений в контроле, причем это снижение находилось на грани статистической значимости ($p=0.0543$). У ММЛ с АГ при наличии гетерозиготного генотипа Met235Thr концентрация в крови ЭТ-1 была статистически значимо выше в сравнении с контролем ($p=0.0309$) и генотипом Met235Met ($p=0.0328$). Также наблюдался рост значений АП II, который был выше уровней в сравнении с контролем ($p=0.1525$) и статистически значимо превосходил показатели при генотипе Met235Met ($p=0.011$). У машинистов с АГ с генотипом Thr235Thr содержание ЭТ-1 и АП II было статистически значимо выше как в сравнении с контролем ($p<0.0001$), так и в сравнении с генотипами Met235Met ($p=0.0001$ и $p=0.0007$ соответственно) и Met235Thr ($p=0.0272$ и $p=0.0025$ соответственно).



Процессы ЭД, сопровождающиеся ингибированием продукции NO и ростом производства вазоконстрикторов, которые были в большей степени выражены при генотипах Met235Thr и Thr235Thr, закономерно сопровождаются развитием процессов ремоделирования сосудов [Vanhoutte et al., 2015], что мы наблюдали при изучении полиморфизма Met235Thr гена AGT. Получено статистически значимое увеличение толщины КИМ ОСА ($p=0.0006$) в зависимости от генотипа указанного гена (табл. 8). В группе ММЛ с АГ с генотипом Met235Met, в которой процессы ЭД не имели выраженного характера, размер КИМ ОСА был близок к значениям группы контроля ($p=0.8512$). При генотипе Thr235Thr значения КИМ ОСА были максимальны как в сравнении с контролем ($p<0.0001$), так и в сравнении с генотипами Met235Met ($p=0.0011$) и Met235Thr ($p=0.0096$).

Таблица 8
Table. 8

Сравнительная характеристика содержания вазорегуляторных веществ и толщина КИМ ОСА в зависимости от полиморфного варианта Met235Thr гена AGT
Comparative characteristics of the concentration of vasoregulatory substances and intima media complex thickness of common carotid artery depending of the AGT Met235Thr gene polymorphism

Показатель	Met235Met (n=12)	Met235Thr (n=33)	Thr235Thr (n=16)	p(F)	Контроль (n=50)
ЭТ-1, пг/мл	6.83 (6.06–8.61)	10.94 (6.88–15.00)	25.41 (7.99–42.83)	$p=0.0183$	7.24 (6.57–7.76)
NO ₂ ⁻ , мкмоль/л	7.45 (6.14–8.75)	5.44 (4.84–6.05)	4.36 (3.26–5.47)	$p=0.0278$	7.56 (6.83–7.98)
АТII, пкг/л	10.18 (6.46–13.91)	20.38 (15.26–25.51)	38.69 (27.38–50.02)	$p=0.0002$	12.65 (12.75–19.79)
КИМ, см	0.56 (0.51–0.61)	0.74 (0.68–0.79)	0.83 (0.74–0.93)	$p=0.0006$	0.54 (0.55–0.63)

При анализе распределения частот генотипов и аллелей полиморфного маркера Met235Thr гена AGT и степени их ассоциации с АГ были получены статистически значимые данные как для генотипов ($\chi^2=35.22$; $p=0.0001$), так и для аллелей ($\chi^2=32.96$; $p=0.0001$) (табл. 9). Установлено, что носители генотипа Met235Met и аллельного маркера Met имели низкие риски развития АГ (OR=0.08), в то время как носители генотипа Met235Thr и Thr235Thr имели высокие риски развития АГ (OR=6.2 и OR=4.1 соответственно). Соответственно, носители аллельного варианта Thr имели высокие риски развития АГ (OR=5.99).

Таблица 9
Table. 9

Распределение частот генотипов полиморфизма Met235Thr гена AGT и степень ассоциации с артериальной гипертензией
The frequency distribution of the genotypes of the AGT Met235Thr gene polymorphism and the association extent with hypertension

Генотипы	ММЛ с АГ (N=61)		Контроль (N=50)		OR	95% ДИ	χ^2	p (χ^2)
	n	%	n	%				
Met235Met	12	19.7	38	76.0	0.08	0.03–0.19	35.22	0.0001
Met235Thr	33	54.1	8	16.0	6.2	2.5–15.35		
Thr235Thr	16	26.2	4	8.0	4.1	1.27–13.18		
Met	57	0.47	84	84.0	0.17	0.09–0.32	32.96	0.0001
Thr	65	0.53	16	16.0	5.99	3.15–11.3		

Примечание: n – количество обследованных ММЛ; F – критерий Фишера; χ^2 – критерий «хи-квадрат» Пирсона; OR – отношение шансов; p – достигаемый уровень значимости.



Таким образом, полиморфные варианты Met235Thr и Thr235Thr гена AGT, а также носительство аллельного маркера Thr как в гомозиготном, так и в гетерозиготном состоянии следует считать важными маркерами риска развития АГ при действии факторов ХС. Вероятно, действие ХС является одной из причин развития дисбаланса в продукции вазо-регуляторов, усугубляя течение процессов ЭД [Balkaya et al., 2011].

АГ представляет собой полигенное расстройство, возникающее в результате наследования ряда генов восприимчивости, и включает в себя различные экологические детерминанты. Полиморфизм ряда генов-кандидатов по-разному и через различные механизмы влияет на степень АГ [Singh et al., 2016].

Ранее нами опубликованы результаты исследования [Лобзин и др., 2016] касательно ассоциации I/D полиморфизма гена ангиотензин-превращающего фермента (ACE) с АГ при действии ХС. По результатам исследования пришли к выводу, что экспрессия генов, содержащих аллель D, ассоциируется с более высокими цифрами АД. Генотип D/D полиморфизма гена ACE ассоциируется с высоким риском формирования АГ, развитием процессов ЭД в условиях действия ХС (табл. 10).

Таблица 10
Table. 10

Распределение частот генотипов полиморфизма I/D гена ACE и степень ассоциации с артериальной гипертензией
The frequency distribution of the genotypes of the ACE I/D gene polymorphism and the association extent with hypertension

Генотипы	ММЛ с АГ (N=60)		Контроль (N=50)		p (F)	OR	95% ДИ	χ^2	p (χ^2)
	n	%	n	%					
I/I	6	10	12	24	0.030	0.352	0.121–1.02	17.48	0.0002
I/D	12	20	23	46	0.002	0.293	0.126–0.681		
D/D	32	70	15	30	0.000	5.444	2.4–12.349		
I	24	20	47	47	<0.0001	0.282	0.155–0.511	18.19	<0.0001
D	96	80	53	53	<0.0001	3.547	1.956–6.433		

Примечание: n – количество обследованных ММЛ; F – критерий Фишера; χ^2 – критерий «хи-квадрат» Пирсона; OR – отношение шансов; p – достигаемый уровень значимости.

При рассмотрении сочетания генотипов I/D гена ACE и Met235Thr гена AGT возможно 9 различных комбинаций. В группе ММЛ с АГ чаще встречается сочетание гетерозиготного варианта гена ACE и гетерозиготного варианта Met235Thr гена AGT – 21.67 % (рис. 2). Наибольшее количество ММЛ имели комбинацию генотипов, содержащих либо признак делеционного полиморфизма гена ACE – D в гетерозиготном (I/D), либо в гомозиготном состоянии (D/D) и аллельный маркер 235Thr гена AGT также в гетерозиготном или в гомозиготном состоянии. Данные генетические признаки ассоциированы с последующей гиперпродукцией АП II из АП I. ММЛ с комбинацией полиморфизмов I/I+Met235Met, при которой наблюдали минимальное повышение цифр АД и отсутствие признаков ЭД, что можно соотнести с адекватной функцией РААС, обнаружены лишь в 1.67 % случаев, что свидетельствует о минимальном реагировании на факторы ХС.

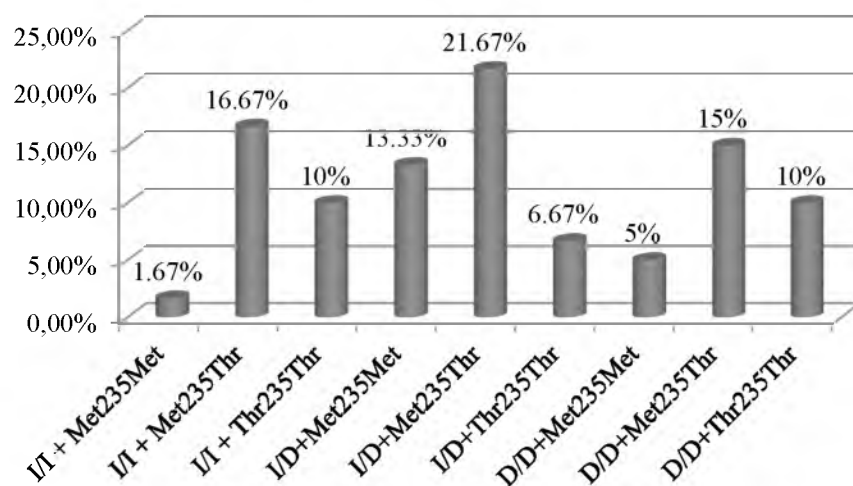


Рис. 2. Частота встречаемости объединенных полиморфизмов I/D гена ACE и Met235Thr гена AGT в группе ММЛ с АГ

Fig. 2. The frequency of occurrence of the ACE gene insertion/deletion (I/D) polymorphism and the AGT Met235Thr gene of RRE group with AH

Выводы

Экспрессия в условиях действия факторов хронического стресса генотипов Met235Thr и Met235Thr полиморфного маркера Met235Thr гена AGT повышает риски формирования артериальной гипертензии. Неблагоприятным выглядит сочетание указанной экспрессии полиморфного маркера Met235Thr гена AGT с экспрессией генотипов I/D и D/D делеционного полиморфизма гена ACE. Помимо высоких рисков развития артериальной гипертензии экспрессия упомянутых генотипов сопровождается развитием процессов эндотелиальной дисфункции и ремоделирования сосудов.

Внедрение в клиническую практику все более доступных молекулярно-генетических исследований позволяет выявлять контингент лиц с потенциально высоким риском развития сосудистых заболеваний с планированием целенаправленных профилактических и лечебных мероприятий.

Еще более перспективным выглядит проведение указанных исследований при отборе в профессии, связанные с хроническим действием стрессоров.

Список литературы References

1. Громова Е.А. 2012. Психосоциальные факторы риска сердечно-сосудистых заболеваний (обзор литературы). Сибирский мед. журнал, 27 (2): 22–29.

Gromova E.A. 2012. Psichosotsial'nye faktory riska serdechno-sosudistykh zabolevaniy (obzor literatury) [Psychosocial risk factors for cardiovascular disease (review)]. Sibirskiy med. zhurnal, 27 (2): 22–29. (in Russian)

2. Лобзин С.В., Луцкий И.С., Кишеня М.С. 2016. Ассоциация полиморфизма гена ACE с формированием патологии сердечно-сосудистой системы в условиях действия хронического психо-эмоционального стресса. Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, 8 (3): 55–61.

Lobzin S.V., Lutskiy I.S., Kishenya M.S. 2016. Assotsiatsiya polimorfizma gena ASE s formirovaniem patologii serdechno-sosudistoi sistemy v usloviyakh deystviya khronicheskogo psikhо-emotsional'nogo stressa [The association of polymorphism in ace gene with the formation pathology of cardiovascular system in condition of chronic psycho-emotional stress]. Vestnik Severo-Zapadnogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta im. I. I. Mechnikova, 8 (3): 55–61. (in Russian)

3. Пахомеля Н.С., Урясьев О.М., Шаханов А.В. 2014. Роль полиморфизма некоторых генов в реализации артериальной гипертензии. Журнал «Земский врач», 3–4 (24): 21–24.



Pakhomelya N.S., Uryas'ev O.M., Shakhanov A.V. 2014. Rol' polimorfizma nekotorykh genov v realizatsii arterial'noy gipertenzii [The place of the some genes polymorphism in the implementation of arterial hypertension]. *Zhurnal «Zemskiy vrach»*, 3–4 (24): 21–24. (in Russian)

4. Balkaya M., Prinz V., Custodis F., Gertz K., Kronenberg G., Kroeber J., Fink K., Plehm R., Gass P., Laufs U., Endres M. 2011. Stress worsens endothelial function and ischemic stroke via glucocorticoids. *Stroke*, 42 (11): 3258–3264.

Bermúdez V., Bermúdez F., Acosta G., Acosta A., Añez J., Andara C., Leal E., Cano C., Manuel V., Hernández R., Israili Z. 2008. Molecular mechanisms of endothelial dysfunction: from nitric oxide synthesis to ADMA inhibition. *Am J Ther.*, 15 (4): 326–33.

5. Dang R., Guo Y., Zhang L., Chen L., Yang R., Jiang P. 2016. Chronic stress and excessive glucocorticoid exposure both lead to altered Neuregulin-1/ErbB signaling in rat myocardium. *Steroids*, 112:47–53. doi: 10.1016/j.steroids.2016.04.011. Epub 2016 Apr 29.

6. De Luca C., Deeva I., Mariani S., Maiani G., Stancato A. 2009. Monitoring antioxidant defenses and free radical production in space-flight, aviation and railway engine operators, for the prevention and treatment of oxidative stress, immunological impairment, and pre-mature cell aging. *Toxicol. Ind. Health.*, 25 (4–5): 259–67.

7. Dickson M.E., Sigmund C.D. 2007. Genetic basis of hypertension: revisiting angiotensinogen. *Hypertension*, 48: 14–20.

8. Hering D., Lachowska K., Schlaich M. 2015. Role of the Sympathetic Nervous System in Stress-Mediated Cardiovascular Disease. *Curr. Hypertens. Rep.*, 17 (10): 80. doi: 10.1007/s11906-015-0594-5.

9. Lagraauw H.M., Kuiper J., Bot I. 2015. Acute and chronic psychological stress as risk factors for cardiovascular disease: Insights gained from epidemiological, clinical and experimental studies. *Brain Behav. Immun.*, 50: 18–30.

10. McFarlane S.I., Jean-Louis G., Zizi F., Whaley-Connell A.T., Ogedegbe O., Makaryus A.N., Maraj I. 2011. Hypertension in the High-Cardiovascular-Risk Populations. *Int J Hypertens*. Published online 2012 Jun 21. doi: 10.4061/2011/746369.

11. Puzserova A., Slezak P., Balis P., Bernatova I. 2013. Long-term social stress induces nitric oxide-independent endothelial dysfunction in normotensive rats. *Stress.*, 16 (3): 331–9.

12. Schiffrin E.L. 2012. Vascular remodelling in hypertension: mechanisms and treatment. *Hypertension.*, 59 (2): 367–74.

13. Singh M., Singh A.K., Pandey P., Chandra S., Singh K.A., Gambhir I.S. 2016. Molecular genetics of essential hypertension. *Clin Exp Hypertens.*, 38 (3): 268–77.

14. Vanhoutte P.M., Shimokawa H., Feletou M., Tang E.H. 2015. Endothelial Dysfunction and Vascular Disease - A Thirtieth Anniversary Update. *Acta Physiol (Oxf)*. 2015 Dec 26. doi: 10.1111/apha.12646.

15. Winning A., Glymour M.M., McCormick M.C., Gilsanz P., Kubzansky L.D. 2015. Psychological Distress Across the Life Course and Cardiometabolic Risk: Findings From the 1958 British Birth Cohort Study. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 66 (14): 1577–86.